

# 应用 AFLP 分析梅根系与其根围土壤丛枝菌根真菌 DNA 多态性差异

蔡邦平<sup>1\*</sup> 陈俊愉<sup>2</sup> 张启翔<sup>2</sup> 郭良栋<sup>3</sup> 黄耀坚<sup>4</sup> 王增福<sup>4</sup>

<sup>1</sup> 厦门市园林植物园 福建 厦门 361003

<sup>2</sup> 北京林业大学园林学院 北京 100083

<sup>3</sup> 中国科学院微生物研究所真菌学国家重点实验室 北京 100101

<sup>4</sup> 厦门大学生命科学学院 福建 厦门 361005

摘 要：应用巢式 PCR 并进行梅根系与根围土壤丛枝菌根真菌 (arbuscular mycorrhizal fungi, AMF) DNA 扩增片段长度多

ion and similar papers at [core.ac.uk](http://core.ac.uk)

provided by Xiamen Unive

品种的 30 个根围土壤样品中有 28 个样品获得纯化的 DNA 片段, 占样品数 93.3%, 样品平均多态性位点数为 6.5 个, Nei's 基因多样性为 0.3559±0.1382, Shannon 信息指数为 0.5299±0.1676。与梅根系 AMF DNA 多态性比较, 根围土壤的平均多态性位点数明显较多; 且根系 AMF 的 DNA 多态性位点绝大多数存在于土壤 AMF 的 DNA 多态性位点中, 表明根系内 AMF 是由土壤 AMF 发育而来; 根系与根围土壤 AMF DNA 的聚类均与梅品种群、品种关联性不强, 表明 AMF 对宿主梅品种或品种群没有特异的共生关系。

关键词：巢式 PCR, 丛枝菌根真菌, 扩增片段长度多态性

## DNA polymorphism difference between root system and rhizosphere soil arbuscular mycorrhizal fungi of *Prunus mume* by AFLP analysis

CAI Bang-Ping<sup>1\*</sup> CHEN Jun-Yu<sup>2</sup> ZHANG Qi-Xiang<sup>2</sup> GUO Liang-Dong<sup>3</sup> HUANG Yao-Jian<sup>4</sup>  
WANG Zeng-Fu<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Xiamen Botanical Garden, Xiamen, Fujian 361003, China

<sup>2</sup> College of Landscape Architecture of Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

<sup>3</sup> State Key Laboratory of Mycology, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

<sup>4</sup> School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361005, China

**Abstract:** DNA polymorphism of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in root system and those in rhizosphere soil of *Prunus mume*

基金项目：国家自然科学基金 (30470006); 厦门市科技项目 (3502Z20072010, 3502Z20112004)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30470006) and the Science and Technology Item of Xiamen (3502Z20072010, 3502Z20112004).

\*Corresponding author. E-mail: cbangping@163.com

Received: 2014-03-30, accepted: 2014-06-12

was analyzed through DNA amplification by nested PCR based on AFLP marker. The results show that the purified DNA can be extracted from 28 soil samples, accounting for 93.3% of totally 30 samples, collected from rhizosphere of 18 cultivars, averaging 6.5 loci for each sample. The average genetic identity was  $0.3559 \pm 0.1382$ , Shannon information index was  $0.5299 \pm 0.1676$ . The number of loci in rhizosphere soil was much more than that of loci in root sample, and most of loci in root sample could be found in soil sample. It was proved that the AMF in root might be developed from soil AMF. The clustered groups of AMF DNA by AFLP marker both from roots and from soils were not connected with cultivar groups or cultivars of *P. mume*, and indicated that there was no specific symbiotic relationship between AMF and *P. mume*.

**Key words:** nested PCR, arbuscular mycorrhizal fungi, amplified restriction fragment polymorphism

梅 *Prunus mume* (Sieb.) Sieb. et Zucc. 根系与丛枝菌根真菌 (arbuscular mycorrhizal fungi, AMF) 形成共生的丛枝菌根 (蔡邦平等 2008, 2010, 2011, 2013), 梅根系被其根围土壤的 AMF 侵入、扩展形成菌根后, 在根系内形成侵入点、根内菌丝、丛枝、泡囊等结构, 而其宿生的根围土壤则存在根外菌丝、AMF 孢子或孢子果、土生辅助细胞等结构。在以形态特征为主的 AMF 分类中, 其孢子形态是最主要的分类依据, 而利用孢子形态分类技术, 仅能探清根围土壤 AMF 种类或群落, 却难以揭示植物根系内宿生 AMF 种类或群落。

随着分子标记技术的应用, 对共生的丛枝菌根研究提供了技术与方法的支持和改进。Simon *et al.* (1993) 首次利用 PCR 扩增技术测定了 AMF 的 DNA 序列, 郑世学等 (2004) 利用巢式 PCR (Nested PCR) 技术对田间玉米根样中 AMF 进行了特异性检测, 蔡柏岩等 (2008) 也利用 Nested PCR 对黄檗根围 AMF 进行分子鉴定, 王婷婷等 (2014) 则以孢子形态鉴定与扩增 AMF DNA 的 DGGE 技术结合探讨贵州烟草根围 AMF 多样性。作者对于中国梅根围土壤中的 AMF 种类与群落做了系统调查研究 (蔡邦平等 2008, 2010, 2011, 2012, 2013; Cai *et al.* 2007, 2008b, 2009, 2012a, 2013b), 本文利用 Nested PCR 研究根围土壤 AMF DNA 的 AFLP 多态性, 然后通过与之前对梅根系 AMF DNA 的 AFLP 多态性 (蔡邦平等 2012) 结果比较, 分析了梅根系与根围土壤 AMF 的 DNA 多态性的差异性。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

湖北省武汉市东湖风景区的梅园始建于 1956 年, 栽培梅有 1 万余株, 品种约 300 个 (蔡邦平等 2010)。本实验的梅根围土壤样品与根系样品采自武汉东湖梅园 (表 1), 采集时间为 2008 年 2 月梅开花期。采样时, 在土壤 0–20cm 深的梅根围采集土壤样品和根系样品, 每份土壤样品约 500g, 每株为一份样品, 装入无菌的塑料袋。在采集土样时要注意去掉表面的枯枝落叶, 同时要在东、南、西、北 4 个方位均匀取样, 并尽量靠近根系。样品带回室内, 将根系从土壤样品中检出, 与土壤样品同样标示; 土壤样品自然风干后 (1–3d), 保存在低温库内 (4–10 °C), 在 3 个月内处理完毕。

### 1.2 土壤微生物总 DNA 的提取与纯化

采用土壤微生物基因组 DNA 提取试剂盒 (购自北京百泰克公司), 获得根围土壤微生物基因组总 DNA, 以 OMEGA 公司的 Cycle Pure Kit 对基因组 DNA 进行进一步纯化, 去除样品中残留蛋白质, 获得的 DNA 样品直接进行 PCR 扩增或置于 -20 °C 下保存备用。

采用 1% 琼脂糖凝胶电泳, 以 Marker DNA-Hind 做为分子标记, 120V 电压下电泳 20min, 溴化乙锭染色, 在 Tannon GIS-2009 紫外凝胶成像仪分析系统下观察、拍照, 进行 DNA 检测。

表 1 梅根围土壤样品

Table 1 The soil samples of rhizosphere of cultivars of *Prunus mume*

序号 No.	梅品种 Cultivar	品种群* Group*	样品数 No. of samples
1	小绿萼 Xiao Lǜ'e	绿萼品种群 Green Calyx	2
2	宫春 Gongchun	宫粉品种群 Pink Double	1
3	洪岭二红 Hongling Erhong	宫粉品种群 Pink Double	1
4	徽州骨红 Huizhou Guhong	朱砂品种群 Cinnabar Purple	2
5	三轮玉蝶 Sanlun Yudie	玉蝶品种群 <i>Albo-plena</i>	2
6	江梅 Jiangmei	单瓣品种群 Single Flowered	1
7	米单绿 Mi Danlǜ	绿萼品种群 Green Calyx	2
8	米单跳枝 Midan Tiaozhi	跳枝品种群 <i>Versicolor</i>	3
9	复瓣跳枝 Fuban Tiaozhi	跳枝品种群 <i>Versicolor</i>	2
10	昆明小跳枝 Kunming Xiao Tiaozhi	跳枝品种群 <i>Versicolor</i>	1
11	晚碗宫粉 Wanwan Gongfen	宫粉品种群 Pink Double	1
12	粉妆台阁 Fenzhuang Taige	宫粉品种群 Pink Double	1
13	江南朱砂 Jiangnan Zhusha	朱砂品种群 Cinnabar Purple	1
14	多萼朱砂 Duo'e Zhusha	朱砂品种群 Cinnabar Purple	1
15	龙游 Longyou	龙游品种群 <i>Tortuosa</i>	3
16	垂直梅 Chuizhi Mei	垂直品种群 Pendulous	1
17	杏梅 Xingmei	杏梅品种群 Apricot Mei	1
18	美人梅 Meiren Mei	美人品种群 Meiren	3

注：\*品种群划分依据陈俊愉等（2009）的报道.

Note: \*Species group according to Chen *et al.* (2009).

1.3 AM 真菌基因片段的 Nested PCR 扩增

进行两次 Nested PCR 扩增。第一次引物为 LR1：5'-GCATATCAATAAGCGGAGGA-3'和 FLR2：5'-GTCGTTTAAAGCCATTACGTA-3'；第二次引物为 28G1：5'-CATGGAGGGTGAGAATCCCG-3'和 28G2：5'-CCATTACGTCAACATCCTTAACG-3'。

根围土壤 AMF 基因组 PCR 扩增条件为：起始温度 94 3min；变性温度 94 1min，退火温度第一次 54 50s，第二次 59 45s，延伸温度 72 1min，第一次 PCR 进行 24 次循环，第二次 PCR 进

行 29 次循环；最后延伸温度 72 10min。

第一次 PCR 反应产物用 1%琼脂糖凝胶电泳检测，若无条带，则直接作为第 2 次 PCR 反应的模板；若有条带，将其稀释 40 倍作为第 2 次 PCR 反应的模板。Cycle Pure Kit 试剂盒对 PCR 产物进行纯化，利用 1%琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物。

1.4 AFLP 分析

进行酶切、人工接头的连接、预扩增、聚丙烯酰胺凝胶电泳和银染，同蔡邦平等（2012）的方法。

1.5 数据分析

根据电泳图谱进行条带标记，用 NTSYSpc-2.0 软件进行数据分析，用 POPGENE 32 软件，计算得出多态性位点数、多态性条带百分率、Nei 基因多样性指数、Shannon 信息指数、Nei's 基因遗传距离 (GD) 等指数。最后，利用 GD 矩阵进行聚类建立样品间的亲缘关系树图。

2 结果与分析

2.1 根围土壤微生物总 DNA 的提取和 Nested PCR 扩增

18 个梅品种的 30 个根围土壤样品中，有 28 个样品可通过试剂盒法获得土壤微生物总 DNA，占 93.3% 实验样品。土壤微生物总基因组 DNA 经 Cycle Pure Kit 试剂盒纯化，去除样品中残留蛋白质，利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA，主要条带清晰，无明显蛋白质污染现象，且片段大小均为 21kb 左右。

纯化后的微生物总基因组 DNA，经过真核生物大亚基 (LSU) 通用引物 (LR1、FLR2) 和 AMF 的特异引物 (28G1、28G2) 进行 Nested PCR 扩增后，获得土壤中 AMF 的特异 DNA 片段，小于 750bp，介于 520–580bp (图 1)，表明梅根围土壤中存在的 AMF 基因组，通过 Nested PCR 扩增获得了特异的 AMF DNA 片段。

2.2 根围土壤 AMF 基因组 DNA 的 AFLP 指纹图谱分析

根围土壤 AMF 基因组 DNA，经过 Nested PCR 扩增后，进行聚丙烯酰胺的凝胶电泳和银染后，紫外灯下扫描结果 28 个样品共得到指纹图谱带 181 条 (图 2)，全部展现出多态性，多态性位点数 20 个，平均多态性位点数为 6.5 个，Nei's 基因多样性为  $0.3559 \pm 0.1382$ ，Shannon 信息指数为  $0.5299 \pm 0.1676$ 。其中，‘三轮玉蝶’1、‘江南朱砂’、‘杏梅’3 个梅品种根围土壤 AMF 基因组 DNA 的多态性条带最多，都为 11 条；‘美人’

梅 3 的多态性条带最少，为 3 条。具有多态性位点 1 号 (DNA 片段大小约 1 372bp) 的梅品种数量最少，仅 1 个样品；具有多态性位点 6 号 (DNA 片段大小约 745bp) 的梅品种数量最多，为 28 个样品中的 21 个样品所同时具有。

2.3 根围土壤 AMF 基因组 DNA 遗传相似性与聚类图谱

梅品种根围土壤中 AMF 基因组 DNA 在梅各品种之间的 Nei's 遗传距离的差异，反映了其丰富的遗传多样性 (表 2)。Nei's 遗传距离变异范围 0.1–0.9，‘洪岭二红’和‘昆明小跳枝’的遗传

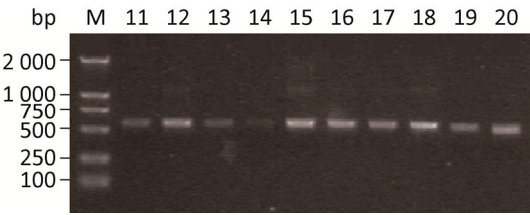


图 1 土壤中 DNA Nested-PCR 扩增产物结果 (部分)  
Fig. 1 AMF DNA amplification by nested PCR of soil samples (Portion).

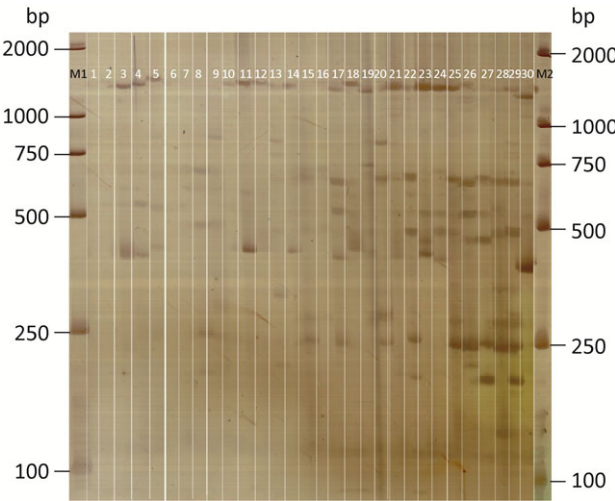


图 2 AMF 基因组 DNA 的 AFLP 电泳图谱  
Fig. 2 Gel electrophoresis AFLP of AMF DNA.

距离最小,而‘宫春’和‘龙游’1、‘宫春’和‘米单跳枝’3的遗传距离最大。

根据聚类结果表明,梅品种根围土壤 AMF 基因组 DNA 的聚类类别与梅“品种群”这一分类级别无相关关系(图 3)。也就是不同品种群的梅品种与其根围土壤 AMF 种群无必然的联系。如属于美人品种群的‘美人’梅的 3 个植株的根围土壤 AMF 种群 DNA 分别与跳枝品种群、龙游品种群和宫粉品种群和垂枝品种群的相聚一类。但杏梅品种群的根围土壤中 AMF 种群基因组 DNA 明显与其他品种群的分开。

## 2.4 相同植株梅的根系与根围土壤 AMF 基因组 DNA 的 AFLP 分析

由于通过 Nest PCR 扩增得到梅根系的 AMF DNA 仅有 8 个样品(蔡邦平等 2012)符合 AFLP

分析的要求,因此将这 8 个根系样品与其根围土壤样品,应用 AFLP 标记的数据,进行 Nei's 遗传距离比较(表 3),分析相同植株的根系内与根围土壤 AMF 种群基因组 DNA 的相关性。

根据聚类结果表明,即使是相同品种的同一直株梅,其根系内与根围土壤 AMF 种群基因组 DNA 均具有较大的遗传差异(图 4),表明梅根围土壤 AMF 遗传群(生理小种、种群或群落)与定居在其根系内的 AFM 遗传群是不同的,并且根系 AFM 遗传群与根围土壤 AFM 遗传群多样性差异较大,两类群可以较明显区分开。植株‘小绿萼’1 与‘三轮玉蝶’2 的根系 AMF 基因组 DNA 遗传相似系数为 1.00,其根系 AMF 可能具有相同的 AMF 生理小种、种群或群落,即表明不同品种的梅植株,有可能其共生的 AMF 是相同的。

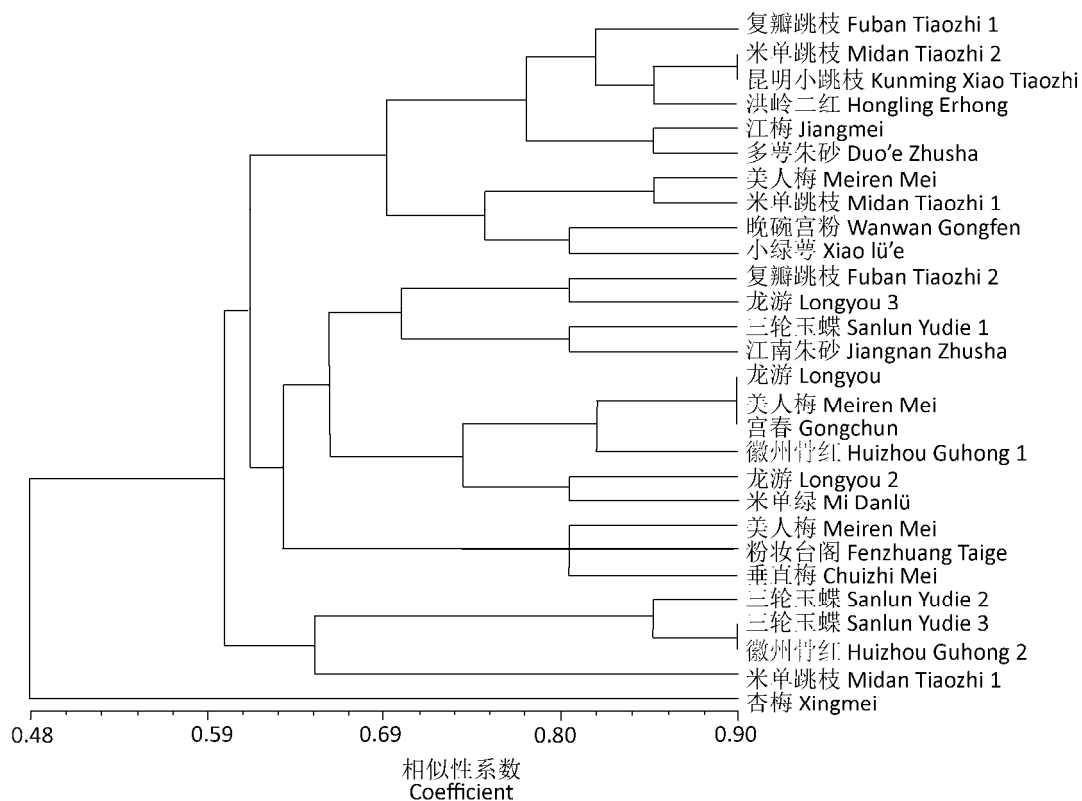


图 3 梅品种根围土壤 AMF 基因组 DNA 基于 AFLP 标记的聚类分析

Fig. 3 Clustered result of AMF DNA from the rhizosphere soils of *Prunus mume* cultivars based on AFLP marker.

表 2 梅品种根围土壤 AMF 基因组 DNA 基于 AFLP 标记的遗传距离  
Table 2 Genetic distance of AMF DNA from the rhizosphere soil of *Prunus mume* cultivars based on AFLP marker

	A2	B1	B2	B3	C	D1	D2	D3	E1	E2	E3	F1	F2	F3	G	H1	H2	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R
A1	0.40	0.35	0.35	0.30	0.35	0.25	0.35	0.40	0.30	0.60	0.45	0.35	0.45	0.25	0.30	0.30	0.45	0.25	0.25	0.40	0.50	0.25	0.15	0.55	0.55	0.15	0.25
A2		0.35	0.25	0.20	0.45	0.35	0.35	0.60	0.20	0.40	0.35	0.55	0.25	0.45	0.50	0.30	0.35	0.45	0.35	0.40	0.50	0.45	0.35	0.35	0.45	0.45	0.45
B1			0.20	0.25	0.20	0.10	0.30	0.35	0.35	0.35	0.40	0.40	0.30	0.40	0.25	0.15	0.30	0.40	0.30	0.45	0.45	0.10	0.40	0.40	0.40	0.40	0.50
B2				0.25	0.20	0.30	0.30	0.45	0.25	0.35	0.40	0.60	0.30	0.30	0.30	0.35	0.25	0.30	0.40	0.30	0.45	0.55	0.30	0.40	0.30	0.40	0.60
B3					0.35	0.25	0.35	0.50	0.30	0.50	0.45	0.45	0.35	0.35	0.40	0.20	0.45	0.35	0.35	0.30	0.60	0.35	0.25	0.45	0.35	0.35	0.45
C						0.30	0.30	0.35	0.45	0.45	0.50	0.50	0.50	0.40	0.35	0.25	0.40	0.30	0.50	0.55	0.45	0.30	0.50	0.40	0.40	0.50	0.50
D1							0.30	0.35	0.25	0.45	0.30	0.30	0.30	0.30	0.40	0.25	0.15	0.30	0.40	0.30	0.35	0.55	0.10	0.30	0.40	0.40	0.40
D2								0.35	0.35	0.35	0.30	0.40	0.50	0.20	0.15	0.25	0.20	0.20	0.30	0.35	0.45	0.30	0.30	0.20	0.20	0.30	0.30
D3									0.50	0.30	0.25	0.15	0.65	0.35	0.30	0.40	0.35	0.25	0.45	0.50	0.60	0.25	0.35	0.55	0.55	0.35	0.25
E1										0.60	0.45	0.45	0.35	0.35	0.50	0.20	0.45	0.55	0.35	0.20	0.60	0.35	0.35	0.35	0.45	0.25	0.35
E2											0.15	0.45	0.35	0.45	0.30	0.50	0.15	0.35	0.35	0.60	0.50	0.35	0.45	0.45	0.45	0.55	0.55
E3												0.30	0.40	0.40	0.25	0.45	0.10	0.30	0.30	0.55	0.65	0.30	0.30	0.40	0.50	0.40	0.40
F1													0.60	0.40	0.35	0.35	0.40	0.30	0.40	0.45	0.65	0.30	0.30	0.50	0.60	0.30	0.20
F2														0.50	0.45	0.35	0.30	0.60	0.30	0.45	0.45	0.40	0.50	0.50	0.50	0.50	0.70
F3																0.15	0.25	0.30	0.20	0.35	0.55	0.40	0.20	0.40	0.40	0.10	0.30
G																	0.30	0.15	0.15	0.15	0.50	0.50	0.25	0.35	0.35	0.25	0.35

待续



续表 2

H1	0.35	0.35	0.35	0.30	0.50	0.25	0.35	0.35	0.35	0.25	0.35
H2	0.30	0.20	0.55	0.55	0.30	0.40	0.30	0.40	0.40	0.40	0.50
I	0.30	0.55	0.45	0.40	0.20	0.40	0.40	0.40	0.30	0.20	
J	0.45	0.55	0.30	0.20	0.40	0.50	0.20	0.40	0.20	0.40	
K	0.50	0.45	0.35	0.45	0.25	0.25	0.35				
L	0.55	0.55	0.45	0.35	0.55	0.45	0.35	0.55	0.45		
M	0.30	0.50	0.50	0.30	0.40						
N	0.50	0.50	0.10	0.20							
O	0.20	0.50	0.50								
P	0.50	0.50									
Q	0.20										

注：A1：复瓣跳枝 1；A2：复瓣跳枝 2；B1：龙游 1；B2：龙游 2；B3：龙游 3；C：米单绿；D1：美人梅 1；D2：美人梅 2；D3：美人梅 3；E1：三轮玉蝶 1；E2：三轮玉蝶 2；E3：三轮玉蝶 3；F1：米单跳枝 1；F2：米单跳枝 2；F3：米单跳枝 3；G：江梅；H1：徽州骨红 1；H2：徽州骨红 2；I：晚碗宫粉；J：多萼朱砂；K：江南朱砂；L：杏梅；M：宫春；N：洪岭二红；O：粉妆台阁；P：垂直梅；Q：昆明小跳枝；R：小绿萼。

Notes: A1: Fuban Tiaozhi 1; A2: Fuban Tiaozhi 2; B1: Longyou 1; B2: Longyou 2; B3: Longyou 3; C: Mi Danlü; D1: Meiren Mei 1; D2: Meiren Mei 2; D3: Meiren Mei 3; E1: Sanlun Yudie 1; E2: Sanlun Yudie 2; E3: Sanlun Yudie 3; F1: Midan Tiaozhi 1; F2: Midan Tiaozhi 2; F3: Midan Tiaozhi 3; G: Jiangmei; H1: Huizhou Guhong 1; H2: Huizhou Guhong 2; I: Wanan Gongfen; J: Duo'e Zhusha; K: Jiangnan Zhusha; L: Xingmei; M: Gongchun; N: Hongling Erhong; O: Fenzhuang Taige; P: Chuizhi Mei; Q: Kunming Xiao Tiaozhi; R: Xiao Lü'e.

表 3 相同品种梅根系内和根围土壤 AMF 基因组 DNA 基于 AFLP 标记的遗传距离

Table 3 Genetic distance of AMF DNA both from the rhizosphere soil and root of *Prunus mume* cultivars based on AFLP marker

	E2	E3	G	H1	H2	M	N	R	E- E1	E- R1	E-R2	E- N	E- E2	E- M	E-H	E- G
E1	0.63	0.47	0.53	0.21	0.47	0.37	0.37	0.37	0.63	0.58	0.53	0.63	0.58	0.58	0.68	0.53
E2		0.16	0.32	0.53	0.16	0.37	0.47	0.58	0.32	0.26	0.32	0.21	0.26	0.47	0.37	0.32
E3			0.26	0.47	0.11	0.32	0.32	0.42	0.37	0.21	0.26	0.26	0.21	0.42	0.32	0.26
G				0.32	0.16	0.26	0.26	0.37	0.32	0.26	0.11	0.21	0.26	0.37	0.16	0.32
H1					0.37	0.26	0.37	0.37	0.42	0.47	0.32	0.42	0.47	0.37	0.47	0.42
H2						0.32	0.42	0.53	0.37	0.32	0.26	0.26	0.32	0.42	0.32	0.37
M							0.32	0.42	0.37	0.21	0.37	0.26	0.21	0.53	0.42	0.26
N								0.21	0.47	0.32	0.16	0.37	0.32	0.42	0.32	0.37
R									0.47	0.42	0.26	0.47	0.42	0.42	0.32	0.47
E- E1										0.16	0.32	0.21	0.16	0.16	0.26	0.11
E- R1											0.26	0.16	0.00	0.32	0.32	0.05
E-R2												0.21	0.26	0.26	0.16	0.32
E- N													0.16	0.37	0.16	0.21
E- E2														0.32	0.32	0.05
E- M															0.32	0.26
E-H																0.37

注：表中梅品种前有标注 E 是指根系内 AMF，无标注 E 则是指土壤中的 AMF。E1：三轮玉蝶 1；E2：三轮玉蝶 2；E3：三轮玉蝶 3；G：江梅；H1：徽州骨红 1；H2：徽州骨红 2；M：宫春；N：洪岭二红；R：小绿萼。

Notes: Label E before the *Prunus mume* cultivar refers to the root AMF, no mark E is AMF from the soil. E1: Sanlun Yudie 1; E2: Sanlun Yudie 2; E3: Sanlun Yudie 3; G: Jiangmei; H1: Huizhou Guhong 1; H2: Huizhou Guhong 2; M: Gongchun; N: Hongling Erhong; R: Xiao Lü'e.

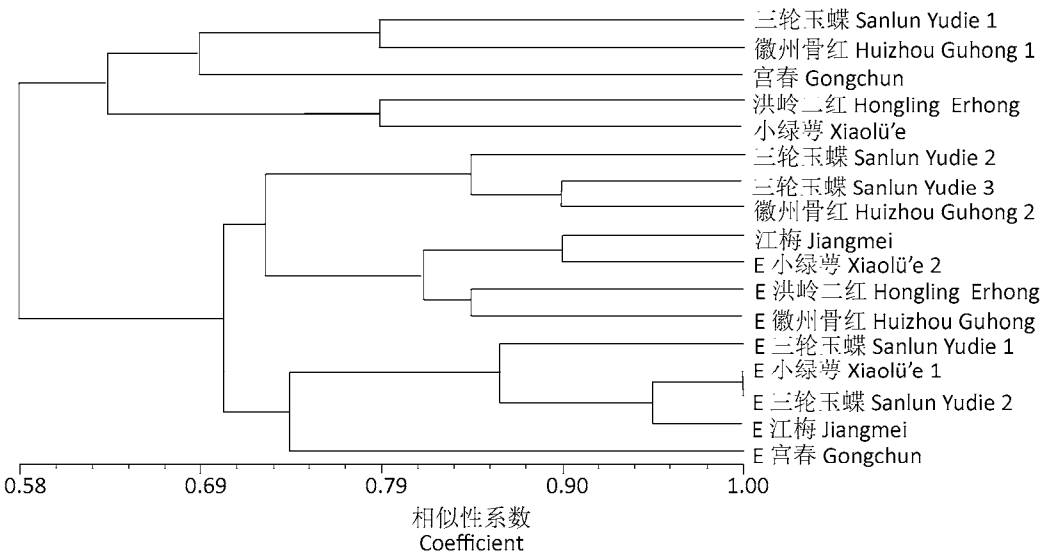


图 4 梅品种根系与根围土壤 AMF 基因组 DNA 基于 AFLP 标记的聚类结果 (E 表示根系 AMF)

Fig. 4 Clustered result of AMF DNA from the rhizosphere soils and roots of *Prunus mume* cultivars based on AFLP marker (E refers to the root AMF).



### 3 讨论

#### 3.1 根围土壤 AM 真菌 DNA 多态性位点多于根系 AM 真菌 DNA 多态性位点

梅根系 AMF 基因组 DNA 与梅根围土壤的 AMF 基因组 DNA 并不吻合。梅根围土壤 AMF 基因组 DNA 的平均多态性位点数为 6.5 个, 而根系 AMF 基因组 DNA 的平均多态性位点数为 3.0 个(蔡邦平等 2012), 根围土壤 AMF 基因组 DNA 的多态性位点数明显较多。说明, 土壤宿生 AMF 的遗传群明显多于宿生在根系的 AMF 遗传群。而且, 根系内 AMF 基因组 DNA 的多态性位点绝大多数存在于土壤的 AMF 基因组 DNA 多态性位点中。说明根系内的 AMF 由土壤 AMF 发育而来, 但土壤 AMF 种类或生理小种不能全部宿生于根系, 真正与根系形成共生的 AMF 仅是土壤 AMF 的部分种类, 即宿主梅与 AMF 的共生也具有一定相互选择性。因此, 对于梅共生 AMF 的研究, 除了研究其根围土壤 AMF 多样性之外, 根系内 AMF 多样性研究对于探讨宿主梅吸收矿质营养作用的功能 AMF 群落、菌种或生理小种具有更重要的意义。

相同植株梅的根系与根围土壤 AMF 基因组 DNA 的 AFLP 分析表明, 根围土壤和根系的 AMF DNA 遗传距离差异极为明显, 表明根围土壤和根系的 AMF 存在着不同的遗传群。也进一步说明, 梅根系内与根围土壤的 AMF 群落、种群或生理小种, 具有较明显的差异。因为根系内 AMF 基因组 DNA 的多态性位点绝大多数存在于土壤的 AMF 基因组 DNA 多态性位点中, 所以多态性位点数量差异则是产生这种遗传距离差异的主要因素, 同时特异性位点也可能造成遗传距离差异。

#### 3.2 根围土壤与根系内的 AMF DNA 具有共有或特异性位点

梅根系 AMF 基因组 DNA 多态性位点中, 1 号位点在 8 个根系样品中有 5 个样品都存在(蔡邦平等 2012); 根围土壤 AMF 基因组 DNA 多态性位

点中, 6 号位点在 28 个根围土壤样品中有 21 个样品同时存在, 但 1 号位点仅在 1 个根围土壤样品中具有。表明不论是根围土壤 AMF 还是根系内 AMF 都有优势种或生理小种存在, 但根围土壤与根系内 AMF 的优势种或生理小种并不一定相同。这一结果说明, 梅根围土壤中的优势种或生理小种, 并不是根系内的 AMF 的优势种或生理小种。

研究发现, DNA 片段大小约 808bp 的 21 号多态性位点是根系特有的, 而根围土壤的 AMF 基因组 DNA 不具有这一多态性位点。这种现象说明, 有些 AMF 种类仅发现宿生于根系内而土壤中不存在, 可能是由于环境或自身发育原因而使这些 AMF 种类或生理小种在土壤中消亡。

#### 3.3 根系与根围土壤 AM 真菌 DNA 的聚类与梅品种群、品种关联性不强

蔡邦平等(2012)的研究表明, 梅品种根系内 AMF 基因组 DNA 的聚类类别与梅的“品种群”这一分类级别无相关关系; 本研究亦表明, 梅品种根围土壤 AMF 基因组 DNA 的聚类类别与梅“品种群”这一分类级别无相关关系。这说明, 梅根系或根围土壤 AMF 的种群或群落, 与梅“品种群”无必然相关关系, 即土壤或根内宿生的 AMF 对宿主梅“品种群”无特定对应共生关系。

研究结果同时也表明, 即使梅品种相同, 其不同植株的根系或根围土壤 AMF 基因组 DNA 没有聚为同一类, 同样说明土壤或根内宿生的 AMF 对宿主梅“品种”也无特定对应共生关系。也就是说, 即使同一品种梅的不同植株, 其根系与根围土壤 AMF 的遗传群也可能不同。

#### [REFERENCES]

- Cai BP, Chen JY, Zhang QX, Guo LD, 2008. A survey of arbuscular mycorrhizal colonization in roots of *Prunus mume* in China. *Acta Horticulturae Sinica*, 35(4): 599-602 (in Chinese)
- Cai BP, Chen JY, Zhang QX, Guo LD, 2008b. Three new records of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Prunus mume* in China. *Mycosystema*, 27(4): 538-542

- Cai BP, Chen JY, Zhang QX, Guo LD, 2009. Five new records of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Prunus mume* in China. *Mycosystema*, 28(1): 73-78
- Cai BP, Chen JY, Zhang QX, Guo LD, 2010. Study on the variability of arbuscular mycorrhizal fungus community associated with *Prunus mume* in spring and autumn in Wuhan Mei Garden. In: Chinese Association of Botanical Gardens (ed.) The botanical gardens of China. No. 13. China Forestry Publishing House, Beijing. 13-19 (in Chinese)
- Cai BP, Chen JY, Zhang QX, Guo LD, 2011. Study on diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Prunus mume* in Chongqing. In: Zhang QX (ed.) Advances in ornamental horticulture of China. China Forestry Publishing House, Beijing. 547-550 (in Chinese)
- Cai BP, Chen JY, Zhang QX, Guo LD, Huang YJ, Wang ZF, 2012. AFLP analysis of arbuscular mycorrhizal fungi in roots of *Prunus mume*. *Journal of Beijing Forestry University*, 34(S1): 82-87 (in Chinese)
- Cai BP, Chen JY, Zhang QX, Guo LD, 2013. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Prunus mume* in Kunming, Yunnan, China. *Journal of Beijing Forestry University*, 35(S1): 38-41 (in Chinese)
- Cai BP, Dong YR, Guo LD, Chen JY, Zhang QX, 2012a. Four new Chinese records of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycosystema*, 31(1): 62-67
- Cai BP, Guo LD, Chen JY, Zhang QX, 2013b. *Glomus mume* and *Kuklospora spinosa*: two new species of Glomeromycota from China. *Mycotaxon*, 124: 263-268
- Cai BP, Zhang Y, Chen JY, Zhang QX, Guo LD, 2007. Three new records of arbuscular mycorrhizal fungi associated with wild *Prunus mume* from Tibet in China. *Mycosystema*, 26(1): 36-39
- Cai BY, Jie WG, Ge JP, Yan XF, 2008. Molecular detection of the arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of *Phellodendron amurense*. *Mycosystema*, 27(6): 884-893 (in Chinese)
- Chen JY, Chen RD, 2009. A new system for classifying China Mei cultivar groups, with special reference to developing superiorities of interspecific hybrid originated groups. *Acta Horticulturae Sinica*, 36(5): 693-700 (in Chinese)
- Simon L, Bousquet J, Levesque RC, Lalonde M, 1993. Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature*, 363: 67-69
- Wang TT, Wang RG, Li YM, Wang CJ, Ren XL, Wang YP, Guo JH, 2014. A primary study on diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with tobacco roots from Guizhou Province. *Mycosystema*, 33(1): 143-151 (in Chinese)
- Zheng SX, Dong XL, Yu ZN, Zhao B, 2004. Molecular detection of four arbuscular mycorrhizal fungal inocula in field trials. *Acta Pedologica Sinica*, 41(5): 742-749 (in Chinese)
- [附中文参考文献]
- 蔡邦平, 陈俊愉, 张启翔, 郭良栋, 2008. 中国梅丛枝菌根侵染的调查研究. 园艺学报, 35(4): 599-602
- 蔡邦平, 陈俊愉, 张启翔, 郭良栋, 2010. 武汉春、秋季的梅根际丛枝菌根真菌群落变化的研究. 见: 中国植物学会植物园分会编辑委员会编. 中国植物园 (第十三期). 北京: 中国林业出版社. 13-19
- 蔡邦平, 陈俊愉, 张启翔, 郭良栋, 2011. 重庆地区梅根际丛枝菌根真菌多样性研究. 见: 张启翔主编. 中国观赏园艺研究进展. 北京: 中国林业出版社. 547-550
- 蔡邦平, 陈俊愉, 张启翔, 郭良栋, 黄耀坚, 王增福, 2012. 梅根系丛枝菌根真菌AFLP分析. 北京林业大学学报, 34(S1): 82-87
- 蔡邦平, 陈俊愉, 张启翔, 郭良栋, 2013. 云南昆明梅花品种根围丛枝菌根真菌多样性研究. 北京林业大学学报, 35(S1): 38-41
- 蔡柏岩, 接伟光, 葛菁萍, 阎秀峰, 2008. 黄檗根围丛枝菌根 (AM) 真菌的分离与分子鉴定. 菌物学报, 27(6): 884-893
- 陈俊愉, 陈瑞丹, 2009. 中国梅花品种群分类新方案并论种间杂交起源品种. 园艺学报, 36(5): 693-700
- 王婷婷, 王仁刚, 李咏梅, 王昌江, 任学良, 王云鹏, 郭坚华, 2014. 贵州烟草根围 AM 真菌多样性的初步研究. 菌物学报, 33(1): 143-151
- 郑世学, 董秀丽, 喻子牛, 赵斌, 2004. 四种 AM 真菌接种剂的田间效应及其分子检测研究. 土壤学报, 41(5): 742-749